

Enzymatische Peptidsynthese

Isolierung von enzymatisch gebildetem L-Methionyl-
L-methionin und L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin;
Vergleich mit synthetischen Produkten

Verkürzte Fassung der

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Rudolf Wilhelm Pfister

aus Basel

BASEL

Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., AG.

1952



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548208_0111

Enzymatische Peptidsynthese

Isolierung von enzymatisch gebildetem L-Methionyl-
L-methionin und L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin;
Vergleich mit synthetischen Produkten

Verkürzte Fassung der

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Rudolf Wilhelm Pfister

aus Basel

BASEL

Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., AG.

1952

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Prof. Dr. *T. Reichstein* und PD. Dr. *M. Brenner*.

Basel, den 5. Februar 1952.

Prof. Dr. *W. Kuhn*.
Dekan.

Herrn *Rudolf Wilhelm Pfister* wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 5. Februar 1952 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 5. Februar 1952 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

*Zur enzymatischen Peptidsynthese aus Aminosäure-estern:
Isolierung und Identifizierung von L-Methionyl-L-methionin
und L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin*

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



MEINEM LIEBEN VATER
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN und Herrn PD. Dr.
M. BRENNER möchte ich für ihre stete Hilfe und ihr
reges Interesse, das sie dieser Arbeit entgegenbrach-
ten, herzlich danken.

Enzymatische Peptidsynthese.

2. Mitteilung¹⁾.

Isolierung von enzymatisch gebildetem L-Methionyl-L-methionin und L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin ; Vergleich mit synthetischen Produkten.

Im Reaktionsgemisch von DL-Methionin-isopropylester, Wasser und Chymotrypsin bzw. Chymotrypsinkonzentraten ist papierchromatographisch das Vorliegen von Methioninisopropylester, Methionin, Methionindipeptid und Methionintripeptid nachgewiesen worden¹⁾.

¹⁾ 1. Mitteilung: *M. Brenner, H. R. Müller & R. W. Pfister*, *Helv.* **33**, 568 (1950).

Der mit Äther extrahierbare, unveränderte Ester lieferte bei der Verseifung D-Methionin¹⁾ und aus den wasserlöslichen Anteilen ist L-Methionin isoliert worden¹⁾. Im folgenden wird nun die Isolierung der Peptide und ihr Vergleich mit den entsprechenden synthetisch hergestellten Produkten beschrieben.

Isolierung der Methioninpeptide

Zur Gewinnung definierter Produkte aus dem bei der Fermentreaktion (nasser Ansatz²⁾) anfallenden Methionin/Peptid-Gemisch schien es am einfachsten, zunächst zu carbobenzoxylieren und zu methylieren und hierauf an Aluminiumoxyd zu chromatographieren. Dabei wurde ohne Schwierigkeit ein Produkt erhalten, das sich nach Analyse, Mischprobe und Drehung als identisch mit Carbobenzoxyl-L-methionyl-L-methionin-methylester³⁾ erwies (Tabelle 1). Das analoge Tripeptid-Derivat dagegen fiel nur in Spuren an. Wie sich später herausstellte, ist es selbst aus schwach aktivem Aluminiumoxyd nur schwer wieder eluierbar. Ferner zeigte sich, dass das Tripeptid unter den angewandten Bedingungen nur zu etwa 20% carbobenzoxyliert wird⁴⁾.

Auf der Suche nach einer andern Auftrennungsmethode wurde das Substanzgemisch unter ständiger papierchromatographischer Kontrolle mit verschiedenen Lösungsmitteln behandelt. Dabei ergab sich, dass man es durch Auskochen mit Äthanol in eine unlösliche Methionin-Fraktion (rund 75%) und eine in der Hitze lösliche, beim Erkalten aber auskristallisierende Peptid-Fraktion (rund 25%) auftrennen kann. Das so erhaltene Peptid-Gemisch besteht aus einem in Wasser schwerer löslichen und einem leichter löslichen Anteil. Ersterer liefert beim Umkristallisieren aus Wasser analysenreines, konstant schmelzendes (Smp. 219—220°) und konstant drehendes ($[\alpha]_D^{16} = -70^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Wasser)) L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin; Ausbeute 2,7% bezogen auf das Methionin/Peptid-Gemisch.

Leider war ein direkter Vergleich mit synthetischem optisch aktivem Tripeptid nicht möglich, denn bisher blieben die Versuche zur Herstellung dieser Substanz aus synthetischem Cbz-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin ohne Erfolg. Das aus dem Ferment-Reaktionsgemisch isolierte Tripeptid wurde daher in zwei Derivate, den Cbz-tripeptid-methylester und den Carboallyloxy-tripeptid-methylester, umgewandelt. Diese Derivate waren hinsichtlich Drehung, Schmelzpunkt und Mischprobe mit den entsprechenden aus L-Methionin synthetisierten Produkten identisch (Tab. 1).

1) M. Brenner & V. Kocher, Helv. **32**, 333 (1949).

2) 1. Mitteilung: M. Brenner, H. R. Müller & R. W. Pfister, Helv. **33**, 568 (1950).

3) Carbobenzoxy- im folgenden abgekürzt: Cbz-.

4) Carboallyloxychlorid reagiert etwa 4mal besser.

Vorversuche mit synthetischem L-Methionyl-L-methionin¹⁾ haben gezeigt, dass dieses Dipeptid mit 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure²⁾ ein ausgezeichnet kristallisierendes, in kaltem Wasser ziemlich schwerlösliches Salz bildet. Die in Wasser leichter löslichen Anteile der Peptidfraktion wurden daher mit dieser Sulfonsäure behandelt. Das in einer Ausbeute von 40 %, bezogen auf die gesamte Peptidfraktion, anfallende Salz hat die Zusammensetzung $C_{10}H_{20}O_3N_2S_2$, $C_{10}H_7O_5NS$, H_2O ; seine übrigen Eigenschaften, die denjenigen des Produktes aus synthetischem Dipeptid entsprechen, finden sich in Tabelle 1. Die Zerlegung dieses Salzes liess sich leicht und fast quantitativ durch Filtration über eine Säule bewerkstelligen, die im oberen Teil aus Amberlite IR-4B, HCl und im untern Teil aus Amberlite IR-4B bestand³⁾. Das Dipeptid, das weder von der Harzbase noch von ihrem Hydrochlorid zurückgehalten wurde⁴⁾, konnte durch Einengen des Filtrates und Zusatz von Äthanol zur Kristallisation gebracht werden. Es entsprach in allen Eigenschaften dem synthetisch bereiteten L-Methionyl-L-methionin (Tab. 1).

Synthese der Vergleichspräparate.

L-Methionyl-L-methionin. Diese Verbindung ist kürzlich von Dekker et al. nach dem Azid-Verfahren hergestellt und beschrieben worden¹⁾. Eine sorgfältige Überarbeitung der Methodik (Azid-Kuppung, Abspaltung der Cbz-Gruppe), die im Hinblick auf die unten beschriebene Synthese des Tripeptids unternommen wurde, führte zu einer wesentlichen Erhöhung der Ausbeute (36 % statt 3,5 %, bezogen auf L-Methionin). Trotz dieser Verbesserung ist dieser Weg zur Herstellung grösserer Mengen des Dipeptids etwas mühsam. Es wurde deshalb auf die Fischer'sche Diketopiperazin-Methode⁵⁾ zurückgegriffen (Aminosäure-methylester $\rightarrow$ Diketopiperazin $\rightarrow$ Dipeptid). Dieses sonst seltener verwendete Verfahren ist hier gut brauchbar, weil einerseits die optisch aktiven Formen des Methionin-diketopiperazins durch HCl schneller gespalten werden als die Mesoform, und andererseits die grosse Kristallisationstendenz des 1-nitronaphtalin-5-sulfonsauren Salzes die Isolierung des Dipeptids erleichtert: L-Methionin-methylester liefert (40 Stunden bei 100° im Rohr) in wechselnder Ausbeute (65—71 %) schwach racemisiertes L-Methionin-diketopiperazin (Smp. 231—233°, $[\alpha]_D = -35^\circ$ bis -37° ($c = 2$ in Eis-

¹⁾ C. A. Dekker, S. P. Taylor & J. S. Fruton, J. Biol. Chem. **180**, 155 (1949).

²⁾ W. H. Stein & S. Moore, Biochemical Preparations I, John Wiley & Sons, New York 1949.

³⁾ Das Hydrochlorid des Austauschers besitzt eine 4mal grössere Kapazität für die Sulfonsäure als die Austauscherbase.

⁴⁾ Vgl. dazu M. Brenner & C. H. Burckhardt, Helv. **34**, 1070 (1951).

⁵⁾ Literaturzusammenstellung und Diskussion: J. S. Fruton, Adv. Protein Chem. **5**, 1 (1949); vgl. ferner H. F. Schott, J. B. Larkin, L. B. Rockland & M. S. Dunn, J. Org. Chem. **12**, 490 (1947).

essig)¹⁾), das ätherunlöslich und deshalb leicht isolierbar ist. Aus Präparaten mit einer Drehung bis hinab zu $[\alpha]_D = -25^\circ$ erhält man bei der Verseifung mit konz. Salzsäure (90 sek., 120°) optisch und chemisch reines Dipeptid. Die Ausbeute beträgt bei Verwendung von gutem Diketopiperazin ($[\alpha]_D = -37^\circ$) rund 60%.

Kocht man das Diketopiperazin ($[\alpha]_D^{23} = -42^\circ$) mit alkoholischer Salzsäure, so resultiert bei anschliessender Behandlung mit 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure in 90-proz. Ausbeute das entsprechende Salz des L-Methionyl-L-methionin-äthylesters: $C_{12}H_{24}O_3N_2S_2$, $C_{10}H_7O_5NS$, Smp. $201-202^\circ$, $[\alpha]_D^{22} = +19,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Pyridin). Es lässt sich durch Verteilung zwischen Essigester und 1-n. Sodalösung leicht in seine Komponenten zerlegen. Der freie Dipeptidester ist ölig.

Derivate von L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin.

a) Cbzo-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester: Der Ester wurde durch Kupplung von Cbzo-L-methionin-azid mit L-Methionyl-L-methionin-äthylester (vgl. oben), anschliessende Verseifung und schliessliche Methylierung mit Diazomethan in rund 50-proz. Ausbeute erhalten. Schmelzpunkt und optische Drehung s. Tabelle 1.

Tabelle 1.

Vergleich von Derivaten aus enzymatisch und synthetisch bereitetem L-Methionin-dipeptid und L-Methionin-tripeptid.

Substanz	enzymatisch		synthetisch		Misch-Smp. $^\circ C$
	Smp. $^\circ C$	$[\alpha]_D$	Smp. $^\circ C$	$[\alpha]_D$	
Cbzo-L-methionyl-L-methionin-methylester	98-99	$[-28 M]^3$	98-99 ²⁾	$[-27 M]$	98-99
Cbzo-L-methionyl-L-methionin .	119-121	$[-18 M]$	118-120 ²⁾	$[-18 M]$	118-121
L-Methionyl-L-methionin . . .	228-231	$[+25 W]$	229-231 ²⁾	$[+27 W]^2)$	227-231
L-Methionyl-L-methionin, 1-nitronaphtalin-5-sulfonsäure, H_2O	98-103	$[+5 Mc]$	98-103	$[+5 Mc]$	98-103
Cbzo-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester . .	123-127	$[-38 M]$	124-128	$[-38 M]$	123-128
Carboallyloxy-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester	120-122	$[-40 M]$	121-123	$[-41 M]$	120-123

Die Behandlung des als Zwischenprodukt erhaltenen Cbzo-L-methionin-tripeptids mit Natrium in flüssigem Ammoniak führte zu einem Methionin-tripeptid (Papier-

¹⁾ Die höchste von uns beobachtete Drehung eines D-Methionin-diketopiperazinpräparates (D-Ester 40 Std. bei 75°) vom Smp. $232-234^\circ$ betrug: $[\alpha]_D^{20} = +45,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig).

²⁾ C. A. Dekker et al., loc. cit.

³⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: M = Methanol, W = Wasser, Mc = Methylcellosolve.

chromatogramm, Elementaranalyse), dessen wässrige Lösung bei Wellenlängen von $\lambda = 6563 \text{ \AA}$ bis $\lambda = 5461 \text{ \AA}$ keine optische Drehung aufwies. Dagegen blieb interessanterweise das Drehvermögen von enzymatisch gebildetem, freiem L-Methionin-tripeptid ($[\alpha]_D^{20} = -70^\circ$) unter den Bedingungen der Na/NH₃-Reduktion erhalten; der Verlust des Drehvermögens erfolgte also im obigen Fall vor oder während der Abspaltung des Cbz-Resstes.

Versuche zur Abspaltung des Cbz-Resstes mit Phosphoniumjodid zeigten im Falle des Dipeptidderivates, dass sowohl die Peptidbindung als auch die Thioäther-Gruppierung teilweise gespalten werden. Immerhin konnten wir dort in kleiner Ausbeute reines L-Methionyl-L-methionin isolieren. Im Falle des Tripeptidderivates versagte auch diese Methode, indem nur schwer trennbare Gemische erhalten wurden.

b) Carboallyloxy-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester: Diese Verbindung wurde ausgehend von Carboallyloxy-L-methionin-azid wie die entsprechende Cbz-Verbindung erhalten. Schmelzpunkt und optische Drehung s. Tabelle 1.

Der eine von uns (M. B.) dankt der *Rockefeller Foundation* in New York für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert worden; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Drehung und Analyse wurden, wo nicht anders vermerkt, 6 Stunden über P₂O₅ am Hochvakuum getrocknet (Badtemp. 50° unter dem Smp., höchstens aber 110°).

I. Isolierungen.

Gewinnung des Methionin/Peptid-Gemisches.

50 g frisch destillierter DL-Methionin-isopropylester werden in 1540 cm³ Wasser gelöst (Ester-Konzentration = 0,17-m.) und 1,5 g dänisches Ferment¹⁾ zugesetzt. Man lässt die resultierende klare Lösung über Nacht bei 20° stehen, klärt das schwach trübe Reaktionsgemisch durch Filtration über Celite²⁾ und extrahiert das Filtrat zur Entfernung des unveränderten D-Methionin-isopropylesters während 20 Stunden im *Kutscher-Steudel*-Apparat mit Pentan vom Sdp. $32\text{--}34^\circ$ ³⁾. Eindampfen (40° , 15 mm Hg) der gegebenenfalls nochmals filtrierten wässrigen Lösung liefert rund 23 g kristallinen Rückstand = Methionin/Peptid-Gemisch.

L-Methionin-dipeptid und Derivate.

a) Cbz-dipeptid-methylester: Ca. 4 g Methionin/Peptid-Gemisch in 200 cm³ Wasser werden auf $0\text{--}2^\circ$ gekühlt und unter Rühren mit 12 cm³ 4-n. NaOH und 4,9 g Cbz-chlorid versetzt. Man rührt noch eine Stunde bei 0° , äthert die Reaktionsmischung 2mal aus, säuert an (Kongo) und extrahiert 3mal mit Essigester. Letzterer wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum bei 40° abgedampft. Es bleibt ein viskoses Öl zurück (6 g), aus dem beim Verdünnen mit etwa 4 Teilen Tetrachlorkohlenstoff Cbz-DL-methionin (1,6 g, Smp. 110° , Mischsmp. mit Vergleichspräparat 111°) auskristallisiert. Nach Eindampfen der Mutterlauge (40° , 15 mm Hg) wird der Rückstand in 90 cm³ Essigester aufgenommen, mit Diazomethan verestert und die Lösung mit 2-n. HCl, 1-n. Soda und Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es bleiben 3,8 g eines Öles zurück, das, in 10 cm³ Chloroform gelöst, durch eine Säule von 100 g Aluminiumoxyd (Aktivität IV⁴⁾) in Petroläther filtriert wird. Benzol/Äther 1:1 eluiert rund 400 mg einer

¹⁾ M. Brenner, H. R. Müller & R. W. Pfister, loc. cit.

²⁾ Standard Super Cel, Celite Corp. (Schneider & Cie., Winterthur).

³⁾ Der Pentanextrakt kann auf D-Methionin verarbeitet werden.

⁴⁾ H. Brockmann & H. Schodder, B. **74**, 73 (1941).

kristallisierenden Substanz, die nach Umlösen aus Aceton/Äther konstant bei 98—99° schmilzt, teilweise rekristallisiert und sich bei 104—105° endgültig verflüssigt. Die Mischprobe mit gleich schmelzendem synthetischem Cbzo-L-methionyl-L-methionin-methylester zeigt keine Depression. $[\alpha]_D^{17} = -26,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Methanol).

$C_{19}H_{25}O_5N_2S_2$	Ber. C 53,25	H 6,59	N 6,54%
(428,6)	Gef. „ 53,26	„ 6,30	„ 6,44%

b) Cbzo-dipeptid: Durch Verseifung (Vorschrift vgl. Seite 2092/2993 des oben beschriebenen Methylesters erhalten. Reinigung durch Kristallisation aus Essigester/Petroläther: Smp. 121—122°; Mischsmp. mit Vergleichspräparat 120—122°; $[\alpha]_D^{16} = -18,2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Methanol).

$C_{18}H_{26}O_5N_2S_2$	Ber. C 52,25	H 6,29	N 6,50%
(414,5)	Gef. „ 52,40	„ 6,34	„ 6,72%

c) Dipeptid-Salz der 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure: Die Mutterlauge B von der Isolierung des Tripeptids (vgl. dort) besteht aus 10 cm³ Wasser und 3,2 g Trockensubstanz; sie enthält schätzungsweise 2 g Dipeptid (Papierchromatogramm). Man verdünnt mit 7,4 cm³ 1-n. HCl, setzt 3,2 g 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure, 2 H₂O⁴) zu, löst unter Rühren bei 90° und lässt langsam (1°/Min.) erkalten ohne den Rührer abzustellen. Bei 60—70° werden einige Impfkristalle zugesetzt. Nachdem man zum Schluss noch 1 Stunde bei 0—5° gerührt hat, werden die Kristalle abgesaugt, 2mal mit wenig Eiswasser gedeckt und getrocknet; 2,82 g. Sie werden einmal aus der 10fachen Menge 0,5-n. HCl und einmal aus der 5fachen Menge Wasser umkristallisiert. Smp. 98—103°; Mischsmp. mit Vergleichspräparat 98—103°; $[\alpha]_D^{18} = +5,0^\circ \pm 0,6^\circ$ ($c = 2$ in Methylcellosolve).

$C_{10}H_{20}O_3N_2S_2$, $C_{10}H_7O_5NS$, H_2O	Ber. C 43,56	H 5,30	N 7,62%
(551,6)	Gef. „ 43,81	„ 5,61	„ 7,40%

d) Dipeptid: 200 mg des obigen Salzes werden in 10 cm³ H₂O gelöst, die Lösung langsam (1 cm³/Min.) durch eine Säule filtriert, die im oberen Teil aus 860 mg feuchtem Amberlite IR-4 B, HCl und im untern Teil aus 200 mg feuchtem Amberlite IR-4B besteht. Das Eluat bleibt lackmusneutral und gibt nach Waschen der Säule mit 40 cm³ Wasser keine positive Ninhydrinprobe mehr. Das gesamte Eluat wird im Vakuum bei 40° zur Trockene verdampft; der Rückstand (95 mg, 95% der Theorie) wird durch Kristallisation aus verd. Äthanol gereinigt; Ausbeute 85 mg. Smp. 228—231°; Mischsmp. mit synthetischem Dipeptid 227—231°; $[\alpha]_D^{19} = +25,3^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in H₂O).

$C_{10}H_{20}O_3N_2S_2$	Ber. C 42,80	H 7,14	N 10,00%
(280,4)	Gef. „ 42,87	„ 6,98	„ 10,12%

L-Methionin-tripeptid und Derivate.

a) Tripeptid: 4 g Methionin/Peptid-Gemisch werden fein verrieben, mit 40 cm³ abs. Äthanol versetzt, die Suspension zum Sieden erhitzt und heiss filtriert. Man lässt das Filtrat verschlossen erkalten, saugt nach 4 Std. von ausgeschiedenen Kristallen ab (470 mg) und verwendet die Mutterlauge zu nochmaligem Auskochen des nicht in Lösung gegangenen Anteils. Man erhält so eine 2. Fraktion und durch weitere Wiederholung noch ein 3. und 4. Kristallisat. Die vereinigten Kristallisate wiegen ca. 1 g und bestehen hauptsächlich aus Methionin-dipeptid und -tripeptid: „Peptidfraktion“. Der in Alkohol unlösliche Rückstand enthält nur wenig Peptide; er lässt sich leicht auf L-Methionin verarbeiten.

4 g fein verriebene „Peptidfraktion“ werden mit 40 cm³ Wasser (20°) 15 Min. verrührt. Man saugt ab (Mutterlauge A), suspendiert den Rückstand (500 mg) ungewaschen in 10 cm³ Wasser und dialysiert die Suspension zur Abtrennung von Fermenteiweiss während 12 Std. bei 5° gegen 100 cm³ Wasser. Nach 6maligem Erneuern des Wassers ist die Suspension peptidfrei (Papierchromatogramm). Die gesammelten Dialysate

¹⁾ W. H. Stein & S. Moore, loc. cit.

werden im Vakuum bei 40° fast zur Trockene eingeengt. Dabei bilden sich ca. 160 mg Kristalle, die laut Papierchromatogramm nur aus Tripeptid bestehen: Smp. 210–213°, teilweise Rekristallisation und erneutes Schmelzen bei 220°; $[\alpha]_D^{20} = -74^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5$ in Wasser). Nach Einengen von Mutterlauge A auf etwa $\frac{1}{4}$ ihres Volumens und 24-stündigem Stehen bei 20° bilden sich Kristalle (300 mg), die abgesaugt (Mutterlauge B), durch 2maliges Umkristallisieren aus Wasser von wenig beigemengtem Dipeptid befreit werden (Papierchromatogramm) und nunmehr konstant bei 210–213° schmelzen, rekristallisieren und endgültig bei 219–220° schmelzen. Auch die Drehung: $[\alpha]_D^{16} = -70^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Wasser) ist konstant. Auf Grund des Papierchromatogramms und der Analysenresultate liegt reines Tripeptid vor.

$C_{15}H_{29}O_4N_3S_3$	Ber. C 43,77	H 7,10	N 10,22%
(411,6)	Gef. „ 44,13	„ 7,12	„ 10,06%

b) Carboallyloxy-tripeptid-methylester: Man löst 100 mg Tripeptid bei 0° in 2,5 cm³ 0,1-n. NaOH, setzt 0,3 cm³ 1-n. NaOH und 0,032 cm³ Carboallyloxychlorid¹⁾ zu, rührt 20 Min. bei 0°, wiederholt die Zugabe von Lauge und Carboallyloxychlorid, rührt nochmals 20 Min. bei 0° und setzt 4 Tropfen Pyridin zu. Nach 5 Min. wird die Lösung mit Wasser aufs doppelte Volumen verdünnt, 2mal mit 6 cm³ Äther extrahiert, angesäuert (Kongo) und 3mal mit je 12 cm³ Essigester ausgeschüttelt. Der Essigesterauszug hinterlässt beim Eindampfen 110 mg (Ausbeute 90%) Säure. Da dieselbe nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde sie mit Diazomethan in den Methylester übergeführt: mikrokristallines Pulver aus Essigester/Petroläther: Smp. 120–122°; Mischsmp. mit Vergleichspräp. 120–122°; $[\alpha]_D^{17} = -40,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{20}H_{35}O_6N_3S_3$	Ber. C 47,15	H 6,92	N 8,25%
(509,7)	Gef. „ 47,23	„ 6,78	„ 8,45%

c) Cbz-tripeptid-methylester: Die Herstellung dieser Substanz erfolgte nach der beim Carboallyloxy-Derivat angegebenen Vorschrift. Die Ausbeute der Acylierung betrug hier jedoch nur 31%. Smp. 123–127°; Mischsmp. mit Vergleichspräp. 123–127°; $[\alpha]_D^{18} = -38,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{24}H_{37}O_6N_3S_3$	Ber. C 50,59	H 6,54	N 7,38%
(569,7)	Gef. „ 50,67	„ 6,60	„ 7,26%

II. Synthese der Vergleichspräparate.

L-Methionin-dipeptid und Derivate.

a) Azid-Verfahren.

Die Anwendung des Azid-Verfahrens zur Darstellung des L-Methionyl-L-methionins und die Herstellung der zugehörigen Zwischenprodukte ist, wie erwähnt, bereits von Dekker, Taylor & Fruton beschrieben worden²⁾. Wir können die Angaben dieser Autoren bestätigen und beschränken uns deshalb auf einige Ergänzungen.

D- und L-Methionin-methylester-hydrochlorid. Diese Hydrochloride werden nach unserer Erfahrung am einfachsten nach der Thionylchloridmethode³⁾ erhalten, indem das nach 2tägigem Stehen homogen gewordene Reaktionsgemisch mit einigen Impfkristallen versetzt wird. Man lässt 4 Std. stehen, setzt auf einen Teil Methionin 10 Vol.-Teile Äther zu, rührt 1 Std. bei 0–5°, saugt die Kristalle ab und wäscht mit kaltem Äther gut nach. Ausbeute 82%. Zur völligen Reinigung wird aus Methanol/Essigester umkristallisiert.

¹⁾ C. M. Stevens & R. Watanabe, Am. Soc. **72**, 725 (1950).

²⁾ C. A. Dekker, S. P. Taylor & J. S. Fruton, loc. cit.; C. A. Dekker & J. S. Fruton, J. Biol. Chem. **173**, 471 (1948).

³⁾ M. Brenner, H. R. Müller & R. W. Pfister, loc. cit.

D-Form: Smp. 140—142°; $[\alpha]_D^{21} = -26,3 \pm 0,8^0$ ($c = 5$ in Wasser)

($C_6H_{14}O_2NSCl$ (199,7): Ber. N 7,01% Gef. N 6,74%)

L-Form: Smp. 145—146°; $[\alpha]_D^{19} = +26,8^0 \pm 0,8^0$ ($c = 5$ in Wasser)

(Ber. C 36,18 H 7,03% Gef. C 36,43 H 7,33%)

Cbzo-L-methionin¹⁾. Nach der üblichen Vorschrift²⁾ dargestellt und aus 4 Teilen Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisiert: Smp. 68—69°; $[\alpha]_D^{21} = -31,6^0 \pm 2^0$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{13}H_{17}O_4NS$	Ber. C 55,09	H 6,05	N 4,95%
(283,3)	Gef. „ 54,91	„ 5,96	„ 5,12%

Cbzo-L-methionin-hydrazid¹⁾. 1,47 g (5 mMol) ölicher Cbzo-L-methionin-methylester (aus Cbzo-L-methionin und Diazomethan, Smp. ca. 42°) werden mit 0,5 cm³ (10 mMol) Hydrazinhydrat und etwa 2 cm³ abs. Methanol versetzt, so dass eben eine homogene Mischung entsteht. Diese wird 24 Std. bei Zimmertemp. aufbewahrt. Man nimmt in 12 cm³ 1-n. HCl auf, extrahiert die Lösung mit wenig Chloroform und bringt sie hierauf unter Rühren durch Zusatz der berechneten Menge 2-n. KHCO₃-Lösung auf pH 8. Man nimmt in Chloroform auf, wäscht einmal mit Wasser, trocknet und dampft ein. Zurück bleiben 1,4 g Hydrazid (Ausbeute 95%) vom Smp. 112—114°. Durch Umkrystallisieren aus 4 Teilen Essigester steigt der Smp. und bleibt bei 121—122° konstant. $[\alpha]_D^{19} = -18,5^0 \pm 2^0$ ($c = 2$ in Methanol).

$C_{13}H_{19}O_3N_3S$	Ber. C 52,49	H 6,44	N 14,14%
(297,4)	Gef. „ 52,78	„ 6,50	„ 14,21%

Cbzo-L-methionyl-L-methionin-methylester. Es empfiehlt sich, die Azid-Kupplung folgendermassen durchzuführen: 2,4 g (12 mMol) L-Methionin-methylesterhydrochlorid werden in 10 cm³ abs. Methanol und 4,6 cm³ Chloroform gelöst, die auf 0° gekühlte Lösung wird mit der berechneten Menge Na-Methylat (ca. 0,5-n. in abs. Methanol) versetzt und auf -15° abgekühlt = „Esterlösung“.

3 g (10 mMol) Cbzo-L-methionin-hydrazid werden in einem Scheidetrichter, der in Eiswasser steht, durch Zusatz von 10 cm³ 1-n. HCl und etwas Eis gelöst. Man kippt nun durch einen weithalsigen Trichter eine eishaltige Nitrillösung (0,69 g NaNO₂ (10 mMol) in 50 cm³ H₂O) auf einmal zu, giesst sofort 50 cm³ eiskalten Essigester nach, schüttelt heftig durch, lässt die wässrige Phase in einen zweiten, mit 30 cm³ eiskaltem Essigester beschickten Scheidetrichter abfließen, schüttelt durch, trennt ab und verwirft die wässrige Phase. Die Essigesterlösung aus dem ersten Scheidetrichter wird sofort nach der Abtrennung der wässrigen Schicht ungewaschen und ungetrocknet durch Watte in die „Esterlösung“ filtriert. Der Essigester aus dem zweiten Scheidetrichter dient zum Waschen des ersten Scheidetrichters und wird hierauf ebenfalls in das Kupplungsgemisch filtriert, das nun in einem Bad von Eiswasser 3 Std. sich selbst überlassen bleibt. Zur Aufarbeitung wird im Vakuum bei 40° zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Lösung mit 2-n. HCl, 2-n. Soda und Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft: Rohausbeute 3,85 g (90%). Die Hauptmenge wird vorteilhaft direkt weiter auf Cbzo-L-methionyl-L-methionin (siehe dort) verarbeitet. Eine durch Chromatographie (vgl. dazu die Angaben über die Isolierung von Cbzo-dipeptid-methylester aus dem enzymatisch gewonnenen Methionin/Peptid-Gemisch) und Kristallisation aus Aceton/Äther gereinigte Probe¹⁾ schmilzt bei 98—99°, rekristallisiert und schmilzt endgültig bei 104—105°. $[\alpha]_D^{19} = -28,0^0 \pm 2^0$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{19}H_{28}O_5N_2S_2$	Ber. C 53,25	H 6,59	N 6,54%
(428,6)	Gef. „ 53,42	„ 6,69	„ 6,55%

Cbzo-L-methionyl-D-methionin-methylester. Die Darstellung erfolgt wie diejenige der diastereomeren L-L-Verbindung. Smp. 112—114°; $[\alpha]_D^{20} = +12,4^0 \pm 2^0$ ($c = 1$ in Methanol). Die Mischprobe mit der L-L-Verbindung schmilzt bei 90—94°.

Gef. C 52,98	H 6,55	N 6,26%
--------------	--------	---------

¹⁾ Mitbearbeitet von Herrn H. R. Rickenbacher.

²⁾ Organische Synthesen **23**, 13 (1943).

Cbz-L-methionyl-L-methionin-isopropylester. Die Darstellung erfolgt unter Verwendung von L-Methionin-isopropylester-hydrochlorid¹⁾ wie diejenige des Methylesters. Smp. 91–92°; $[\alpha]_D^{20} = -29,5^0 \pm 2^0$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{21}H_{32}O_5N_2S_2$	Ber. C 55,20	H 7,01	N 6,14%
(456,6)	Gef. „ 55,46	„ 6,91	„ 6,25%

Cbz-L-methionyl-L-methionin. 3,5 g Cbz-L-methionyl-L-methionin-methylester (Rohprodukt) werden in 54 cm³ Methanol gelöst und nach Zugabe von 18 cm³ 1-n. KOH eine Std. bei 20° aufbewahrt. Die Lösung wird angesäuert (Kongo), fast zur Trockene eingeengt (40°, 15 mm Hg) und die dabei ausfallende Schmiere in Essigester aufgenommen, die Essigesterlösung zuerst mit 2-n. HCl gewaschen und anschliessend abwechselnd mit 1-n. Soda und Wasser erschöpfend extrahiert. Die beim Ansäuern der wässerigen Auszüge ölig ausfallende Säure (3,3 g) wird in Essigester aufgenommen und durch Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther gereinigt. Man erhält 2,5 g Säure (60% bezogen auf eingesetztes Hydrazid) vom Smp. 118–120°. $[\alpha]_D^{20} = -18,4^0 \pm 1^0$ ($c = 2$ in Methanol).

$C_{18}H_{26}O_5N_2S_2$	Ber. C 52,25	H 6,29	N 6,50%
(414,5)	Gef. „ 51,98	„ 6,21	„ 6,57%

Aus der Mutterlauge lassen sich nochmals 600 mg reines Material gewinnen; obige Ausbeute vermehrt sich somit auf 75%. Der durch Veresterung der reinen Säure mit Diazomethan erhaltene Methylester besitzt dieselben Eigenschaften (Smp., Mischprobe, Drehung) wie obiger chromatographisch gereinigter Ester.

L-Methionyl-L-methionin. Zur Abspaltung der Cbz-Gruppe muss hier Natrium in flüssigem Ammoniak verwendet werden, und es ist notwendig, die vom Methioninschwefel teilweise abgespaltene Methylgruppe (Nitoprussidtest positiv) mit Hilfe von Methyljodid wieder einzuführen. Das von Ammoniak befreite, mit Wasser zersetzte Reaktionsgemisch enthält somit NaJ und Alkali. Vor allem die Gegenwart des letzteren bedeutet eine Erschwerung bei der Aufarbeitung. Durch die im folgenden beschriebene Verwendung von Amberlite IR-120²⁾ wird die Schwierigkeit weitgehend überwunden: die Ausbeute an reinem Dipeptid steigt von 39 auf 77%.

Man löst 1,92 g (4,64 mMol) Cbz-L-methionyl-L-methionin in ca. 100 cm³ trockenem, flüssigem Ammoniak, rührt heftig mit einem Vibromischer³⁾ und gibt ein Stück (320 mg, 13,9 mMol) blankgeschnittenes Natrium zu. Sobald die nach etwa 30 Sek. auftretende Blaufärbung der Lösung wieder verschwunden ist (ca. 3 Min.), werden 655 mg (4,64 mMol) Methyljodid in 6,5 cm³ abs. Toluol zugegeben. Man lässt den Ammoniak unter Feuchtigkeitsausschluss verdampfen, evakuiert das Reaktionsgefäß 3 mal, versetzt unter kräftigem Rühren mit 70 cm³ Wasser (20°) und destilliert zur Entfernung von Toluol und noch vorhandenem Ammoniak 5 Min. am Vakuum (Badtemp. 20°). Der Nitoprussidtest ist negativ. Unter Rühren werden nun 9,28 mVal Säure in Form von feuchtem Amberlite IR-120 (H-Form) zugesetzt: die Lösung ist nach 2 Min. lakmusneutral, sie wird sofort vom Harz abdekantiert und letzteres mit Wasser gründlich gewaschen. Man vereinigt Dekantat und Waschwasser, verdampft am Vakuum zur Fast-Trockene und setzt 30 cm³ abs. Äthanol zu, worauf das Dipeptid auskristallisiert (1,1 g). Umkristallisieren durch Lösen in 14 cm³ heissem 60-proz. Äthanol und Zugabe von 28 cm³ heissem abs. Äthanol liefert 1 g (Ausbeute 77%) reines L-Methionyl-L-methionin: Smp. 229–231°; $[\alpha]_D^{24} = +27,0^0 \pm 1^0$ ($c = 2$ in Wasser).

$C_{10}H_{20}O_3N_2S_2$	Ber. C 42,80	H 7,14	N 10,00%
(280,4)	Gef. „ 42,72	„ 7,11	„ 9,90%

b) Diketopiperazin-Verfahren.

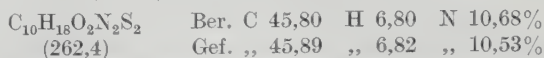
α -L-Methionin-diketopiperazin. α) 6,1 g L-Methionin-methylester (Sdp._{11 mm} = 124–125°) werden während mehreren Monaten verschlossen bei Raumtemp. aufbewahrt.

¹⁾ M. Brenner, H. R. Müller & R. W. Pfister, loc. cit.

²⁾ M. Brenner & C. H. Burckhardt, Helv. **34**, 1070 (1951).

³⁾ AG. für Chemie-Apparate Bau, Zürich.

Der zu einem festen Kristallkuchen erstarrte Kolbeninhalt wird im Mörser mehrmals mit Äther verrieben. Nach Absaugen bleiben 4.1 g (83%) Kristalle zurück, die durch Umkristallisieren aus 60-proz. Essigsäure leicht gereinigt werden können: 3.5 g; Smp. 232—233°; $[\alpha]_D^{23} = -42.7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig).

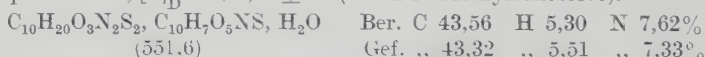


DL-Methionin-methylester liefert bei analoger Behandlung ein Diketopiperazin vom Smp. 233—234°; Mischprobe mit dem optisch aktiven Produkt: 230—231°.

β)¹⁾ 14.6 g (75 mMol) L-Methionin-methylester-hydrochlorid werden in ca. 10 cm³ Wasser gelöst, mit 70 cm³ Äther überschichtet und alles auf 0° abgekühlt. Man setzt den Ester mit einer gesättigten, wässrigen Lösung von 21 g (150 mMol) K₂CO₃ frei und extrahiert die wässrige Phase noch 4mal mit 30 cm³ Äther. Die Ätherlösungen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum bei 40° eingedampft (Kolonne).

Der zurückbleibende ölige Ester (10.5 g; 88%) wird im Einschlussrohr unter Stickstoff 40 Std. auf 100° erwärmt. Die entstandene Kristallmasse wird wie unter α) beschrieben aufgearbeitet. Man erhält 5.4 g (65%) Diketopiperazin. Eine Probe wird umkristallisiert: Smp. 231—233°; $[\alpha]_D^{19} = -37.6^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig).

Dipeptid-Salz der 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure¹⁾. 5.25 g (20 mMol) nach β) erhaltenes rohes Diketopiperazin werden mit 10.5 cm³ konz. HCl ($d = 1.19$) übergossen und, sobald alles gelöst ist, in ein Ölbad von 140—150° getaucht. Vom Sieden an gerechnet wird die Lösung 90 Sek. unter Rückfluss gekocht, auf 20° abgeschreckt und mit 31.5 cm³ Wasser versetzt. Das unverseifte Diketopiperazin fällt fast quantitativ aus. Man saugt ab, deckt einmal mit Wasser und stellt das Filtrat zur späteren Verarbeitung auf die Seite. Das auf der Nutsche zurückgebliebene Diketopiperazin (2.4 g) wird mit Äthanol und Äther gewaschen und nochmals mit HCl gekocht usw. Nach der 4. Verseifung bleiben 330 mg (6%) unverseiftes Material zurück; $[\alpha]_D^{20} = -20^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig). Die vereinigten 4 Filtrate werden mit 5.9 g 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure, 2 H₂O versetzt. Man erwärmt zur klaren Lösung (90°), impft möglichst heiss (70°) mit optisch reinem Dipeptid-Salz und lässt langsam auf 0° erkalten. Das auskristallisierende Salz (7.5 g; Ausbeute 68%) wird einmal aus 52.5 cm³ 0.5-n. HCl umkristallisiert (6.9 g; Smp. 98—100°) und ist nun genügend rein, um auf L-Methionyl-L-methionin verarbeitet zu werden (vgl. unten). Zur Herstellung eines Analysenpräparates wird eine Probe nochmals aus verd. HCl und ein weiteres Mal aus Wasser umkristallisiert: Smp. 98—103°; $[\alpha]_D^{21} = +5.1^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Methylcellosolve).



L-Methionyl-L-methionin¹⁾. Die Zerlegung des obigen Salzes erfolgt nach den Angaben auf Seite 2090. Aus dem resultierenden Rohprodukt erhält man durch einmaliges Umkristallisieren (vgl. Seite 2093) 3.18 g reines Dipeptid (Ausbeute 57% bezogen auf Diketopiperazin); Smp. 228—231°; $[\alpha]_D^{20} = +26.4^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Wasser).

L-Methionyl-L-methionin-äthylester, Salz mit 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure. 320 mg (1.22 mMol) L-Methionin-diketopiperazin ($[\alpha]_D^{23} = -42.7^\circ$) werden in 16 cm³ abs. Äthanol suspendiert und letzterer bei 0° mit trockenem HCl-Gas gesättigt. Die Lösung wird 10 Min. unter Rückfluss gekocht (Bad 130°), im Vakuum bei 40° zur Trockene verdampft und der Rückstand in 10 cm³ Wasser aufgenommen. Man filtriert von etwas ungelöstem Diketopiperazin ab (25 mg; Smp. 234—236°; $[\alpha]_D^{22} = -42.0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Eisessig)), setzt zum Filtrat 300 mg 1-Nitronaphtalin-5-sulfonsäure, 2 H₂O zu, erwärmt und lässt das Salz durch langsames Erkalten auskristallisieren: 550 mg (82%); Smp. 201—202°; $[\alpha]_D^{23} = +19.4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Pyridin).



¹⁾ Mitbearbeitet von Herrn A. Vetterli.

Dasselbe Produkt wird auch aus 1-nitronaphtalin-5-sulfonsaurem L-Methionyl-L-methionin durch direkte Veresterung mit alkoholischer Salzsäure erhalten.

L-Methionin-tripeptid und Derivate.

Carboallyloxy-L-methionin-hydrazid. Die Darstellung erfolgt wie diejenige der entsprechenden Cbzo-Verbindung. Carboallyloxy-L-methionin und sein Methylester konnten aber nicht kristallin erhalten werden. Das Hydrazid (Ausbeute 73% bezogen auf L-Methionin) ist aus 4 Teilen Essigester gut umkristallisierbar: Smp. 108–110°; $[\alpha]_D^{19} = -19,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_9H_{17}O_3N_3S$	Ber. C 43,71	H 6,93	N 16,99%
(247,3)	Gef. „ 43,58	„ 7,01	„ 16,74%

Carboallyloxy-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester. Die Azid-Kupplung, Verseifung und Veresterung erfolgt wie bei der entsprechenden Cbzo-Verbindung (vgl. unten). Ausbeute 73%. Reinigung durch Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther: Smp. 121–123°; $[\alpha]_D^{21} = -41,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$ in Methanol).

$C_{20}H_{35}O_6N_3S_3$	Ber. C 47,15	H 6,92	N 8,25%
(509,7)	Gef. „ 47,04	„ 6,82	„ 8,03%

Cbzo-L-methionyl-L-methionyl-L-methionin-methylester. Man suspendiert 1,12 g (2 mMol) fein zerriebenen 1-nitronaphtalin-5-sulfonsauren L-Methionyl-L-methionin-äthylester in 22,4 cm³ Essigester und schüttelt abwechselnd mit 1-n. Soda und Wasser, bis die Lösungsmittel farblos sind. Die Essigesterlösung wird mit Na₂SO₄ getrocknet, auf –15° gekühlt und mit einer Azid-Lösung aus 2 mMol Cbzo-L-methionin-hydrazid versetzt. Man lässt 3 Std. bei 0–5° stehen, schüttelt mit 2-n. HCl, 2-n. Soda und Wasser durch, trocknet und dampft im Vakuum ein. Der Rückstand (1 g; 90%) wird unter leichtem Erwärmen in 15,4 cm³ Aceton gelöst, die auf 20° abgekühlte Lösung zur Verseifung mit 2,2 cm³ 1-n. KOH versetzt und während 30 Min. heftig gerührt. Dann wird mit 1-n. HCl kongosauer gestellt, das Aceton am Vakuum möglichst vollständig entfernt, der halbkristalline Rückstand in 40 cm³ Essigester aufgenommen und die Säure wie beim entsprechenden Dipeptid-Derivat beschrieben mit Soda extrahiert. Die wässrigen Auszüge enthalten 800 mg (73%) Säure, die in Essigesterlösung mit Diazomethan (in Pentan) verestert werden. Der Ester lässt sich aus Essigester durch vorsichtigen Zusatz von Petroläther umkristallisieren, bildet aber gern ein Gel: Smp. 124–128°; manchmal durchsetzt sich die Schmelze mit langen Nadeln, die dann endgültig bei 153° schmelzen. $[\alpha]_D^{17} = -38,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Methanol).

$C_{24}H_{37}O_6N_3S_3$	Ber. C 50,59	H 6,54	N 7,38%
(569,7)	Gef. „ 50,68	„ 6,77	„ 7,09%

Methionin-tripeptid (optisch inaktiv). Die Reduktion von 229 mg Cbzo-L-methionin-tripeptid mit Na in flüssigem NH₃ nach der beim Dipeptid ausgearbeiteten Vorschrift liefert 173 mg (98%) einer mikrokristallinen, weissen Substanz, die nach Umkristallisieren aus Wasser bei 210–213° schmilzt, teilweise rekristallisiert und bei 219–220° wieder flüssig wird. Die Mischprobe mit isoliertem Tripeptid (Smp. 210–213°/220°) ergibt eine Schmelzpunktsdepression von 6°. $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ ($c = 0,5$ in Wasser), eine Rotationsdispersion war nicht feststellbar.

$C_{15}H_{29}O_4N_3S_3$	Ber. C 43,77	H 7,10	N 10,22%
(411,6)	Gef. „ 43,93	„ 7,30	„ 9,98%

Die Analysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der Org.-chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung Herr E. Thommen) ausgeführt.

Zusammenfassung

Aus dem Reaktionsgemisch von DL-Methionin-isopropylester und einem Chymotrypsin-haltigen Enzympräparat sind zwei Peptide isoliert und als L-Methionyl-L-methionin bzw. L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin identifiziert worden. Damit ist der frühere papierchromatographische Befund bestätigt und das Vorliegen einer enzymatischen Peptidsynthese aus Aminosäureestern endgültig bewiesen.

Im Zusammenhang mit der Beschaffung der synthetischen Vergleichssubstanzen ist die Bereitung und Aufspaltung des L-Methionindiketopiperazins zu einer bequemen Darstellungsmethode für das optisch aktive Dipeptid ausgearbeitet worden. Andererseits konnten die Literaturangaben über die Darstellung dieses Dipeptids nach dem Azid-Verfahren in einigen Punkten ergänzt werden.

Die Synthese des freien L-Methionyl-L-methionyl-L-methionins stiess auf unerwartete Schwierigkeiten, indem es sich zeigte, dass die reduktive Abspaltung (Natrium/flüssiger Ammoniak) der Cbz-Gruppe mit einem vorläufig nicht abgeklärten Verlust der optischen Drehung verbunden ist.

Curriculum vitae

Am 1. Dezember 1922 wurde ich, *Rudolf Wilhelm Pfister*, als Sohn von Carl Rudolf Pfister, Dr. med., und Maria geb. Groenveld in Bindjei bei Medan (Niederländisch Indien) als Bürger von Basel geboren. Meine Mutter verstarb 1931.

Mein Vater siedelte 1934 nach Basel über. Nachdem ich hier die ersten Klassen des Realgymnasiums besucht hatte, durfte ich die weitere Schulzeit an der Evangelischen Lehranstalt in Schiers (Graubünden) absolvieren und bestand dort im Frühjahr 1943 die Eidgenössische Maturität Typus B. Im selben Jahre immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel. Als Hauptfach belegte ich Chemie. Zwei Semester (1946/47) studierte ich an der Ecole de Chimie in Genf.

Während meines Studiums legte ich folgende Examina ab: Mineralogie (1945), Physik (1946), Anorganische Chemie (1946), Organische Chemie (1947), Physikalische Chemie (1947). Die vorliegende Arbeit begann ich im Frühjahr 1948 unter der Leitung von PD. Dr. M. Brenner. Sie wurde im Januar 1952 abgeschlossen. Ich besuchte Vorlesungen und Praktika folgender Herren Professoren und Privatdozenten: M. Brenner, E. Briner, P. Buchner, A. Buxtorf, E. Cherbuliez, H. Erlenmeyer, M. Geiger-Huber, C. Grob, P. Huber, W. Kuhn, H. Kuhn, K. H. Meyer, A. Portmann, T. Reichstein, M. Reinhard, E. Schlittler, J. Tomčick, F. Veržar, R. Wizinger.

Seit 1949 arbeite ich als Unterrichtsassistent von Prof. Dr. T. Reichstein an der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.

